

BV9. Transformación genética de papa cultivar Spunta para aumento de la tolerancia a estrés hídrico

Decima Oneto, C. (1,2)*#; D'Ippólito, S. (3,4)#; Massa, G.A. (1,2,4); Norero, N.S. (1); Rey, F. (1,2,3); Feingold, S. (1); Guevara, G. (3,4).

(1) Laboratorio de Agrobiotecnología, IPADS Conicet, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Agrarias, UNMDP, Argentina. (3) Instituto de Investigaciones Biológicas, UNMDP, Argentina. (4) CONICET, Argentina. #Ambos autores contribuyeron en igual proporción. *decimaoneto.cecilia@inta.gob.ar

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) es el tercer cultivo alimenticio más importante del mundo con aproximadamente 385 millones de toneladas. La limitación más frecuente para la producción de papa se asocia con deficiencias hídricas. En este contexto, el mejoramiento genético del cultivo puede conducir a una mejora en la tolerancia de las plantas a este tipo de estrés. Previamente demostramos que en *Arabidopsis thaliana* (At) la sobreexpresión estable de una aspartil proteasa (AP) típica (AtAPA1) produjo un aumento de la tolerancia frente al estrés hídrico. El objetivo del presente proyecto fue obtener plantas de papa transgénicas que sobreexpresen una AP homóloga a APA1 (denominada StAP3), las cuales podrían presentar un comportamiento similar. Para ello, se transformaron, vía *Agrobacterium tumefaciens*, explantes foliares de papa cv. Spunta. Se obtuvieron 5 eventos, los cuales fueron analizados mediante qPCR para determinar los niveles de expresión de StAP3. Se seleccionaron 3 eventos (A, B y C), los cuales presentaron una sobreexpresión relativa alta (B; 10.21), media (C; 1.91) y baja (A; 0.79) de StAP3 comparando con controles no transformados (WT) (gen de referencia: Factor de Elongación de papa). Estos niveles de expresión fueron validados mediante Western Blot con anticuerpos específicos. Se realizó un ensayo *in vitro* de estrés osmótico utilizando medio MS conteniendo sorbitol 40 g/L y se realizaron mediciones moleculares y morfológicas a lo largo de un mes. Los eventos transgénicos presentaron mejor desempeño frente al estrés comparando con las plantas WT. Se encontraron diferencias significativas entre el control WT y los eventos transgénicos ($P < 0.0001$; $\alpha = 0.05$) en los parámetros morfológicos tales como contenido de agua, crecimiento, peso fresco, peso seco y contenido de clorofila. Con el objetivo de conocer los mecanismos moleculares implicados en la mayor tolerancia observada, se realizaron ensayos de qPCR para genes asociados a diferentes vías de señalización. Los resultados indicaron que las plantas transgénicas de los 3 eventos, bajo condiciones de estrés, presentaron mayores niveles de expresión del gen P5SC en comparación con el WT bajo la misma condición. El gen P5SC está implicado en la síntesis del osmolito prolina que, en condiciones de estrés osmótico, aumenta evitando la pérdida de agua de las plantas. Por otro lado, no se

observaron diferencias en la expresión en la expresión de genes que codifican para enzimas involucradas en la removilización de lípidos

Actualmente estamos analizando la implicancia de otras vías relacionadas con el metabolismo hormonal relacionado con la respuesta de las plantas al estrés hídrico/osmótico como, por ejemplo, la señalización mediada por ABA.

Estos resultados deberán validarse en un ensayo de estrés hídrico en invernáculo para caracterizar los eventos transgénicos con respecto a la tolerancia al déficit hídrico y al uso eficiente del agua.